

Aus der Abteilung für experimentelle Chirurgie und
pathologische Biochemie an der
Chirurgischen Universitätsklinik Marburg/Lahn
Vorstand: Prof. Dr. W. Lorenz

HISTAMINFREISETZUNG BEIM HUND DURCH
CREMOPHOR E1, EINEM
GEBRÄUCHLICHEN LÖSUNGSVERMITTLER
LIPOPHILER ARZNEIMITTEL

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von —

ROLF ORTHEN
—

aus Ehringshausen/Wetzlar

Marburg 1977
—

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus der Abteilung für experimentelle Chirurgie und
pathologische Biochemie an der
Chirurgischen Universitätsklinik Marburg/Lahn
Vorstand: Prof. Dr. W. Lorenz

HISTAMINFREISETZUNG BEIM HUND DURCH
CREMOPHOR E1, EINEM
GEBRÄUCHLICHEN LÖSUNGSVERMITTLER
LIPOPHILER ARZNEIMITTEL

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

ROLF ORTHEN

aus Ehringshausen/Wetzlar

Marburg 1977

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg am 28.1.1977
Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan : Professor Dr. med. F. Neurath
Referent : Professor Dr. med. W. Lorenz
Correferent : Professor Dr. med. H. Bernhardt

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

1	Einleitung	1
2	Die Eltern	2
3	Die Kindheit	3
4	Die Jugend	4
5	Die Ehe	5
6	Die Kinder	6
7	Die Eltern	7
8	Die Kindheit	8
9	Die Jugend	9
10	Die Ehe	10
11	Die Kinder	11
12	Die Eltern	12
13	Die Kindheit	13
14	Die Jugend	14
15	Die Ehe	15
16	Die Kinder	16
17	Die Eltern	17
18	Die Kindheit	18
19	Die Jugend	19
20	Die Ehe	20
21	Die Kinder	21
22	Die Eltern	22
23	Die Kindheit	23
24	Die Jugend	24
25	Die Ehe	25
26	Die Kinder	26
27	Die Eltern	27
28	Die Kindheit	28
29	Die Jugend	29
30	Die Ehe	30
31	Die Kinder	31
32	Die Eltern	32
33	Die Kindheit	33
34	Die Jugend	34
35	Die Ehe	35
36	Die Kinder	36
37	Die Eltern	37
38	Die Kindheit	38
39	Die Jugend	39
40	Die Ehe	40
41	Die Kinder	41
42	Die Eltern	42
43	Die Kindheit	43
44	Die Jugend	44
45	Die Ehe	45
46	Die Kinder	46
47	Die Eltern	47
48	Die Kindheit	48
49	Die Jugend	49
50	Die Ehe	50
51	Die Kinder	51
52	Die Eltern	52
53	Die Kindheit	53
54	Die Jugend	54
55	Die Ehe	55
56	Die Kinder	56
57	Die Eltern	57
58	Die Kindheit	58
59	Die Jugend	59
60	Die Ehe	60
61	Die Kinder	61
62	Die Eltern	62
63	Die Kindheit	63
64	Die Jugend	64
65	Die Ehe	65
66	Die Kinder	66
67	Die Eltern	67
68	Die Kindheit	68
69	Die Jugend	69
70	Die Ehe	70
71	Die Kinder	71
72	Die Eltern	72
73	Die Kindheit	73
74	Die Jugend	74
75	Die Ehe	75
76	Die Kinder	76
77	Die Eltern	77
78	Die Kindheit	78
79	Die Jugend	79
80	Die Ehe	80
81	Die Kinder	81
82	Die Eltern	82
83	Die Kindheit	83
84	Die Jugend	84
85	Die Ehe	85
86	Die Kinder	86
87	Die Eltern	87
88	Die Kindheit	88
89	Die Jugend	89
90	Die Ehe	90
91	Die Kinder	91
92	Die Eltern	92
93	Die Kindheit	93
94	Die Jugend	94
95	Die Ehe	95
96	Die Kinder	96
97	Die Eltern	97
98	Die Kindheit	98
99	Die Jugend	99
100	Die Ehe	100



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555627_0010

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
1.1. Cremophor El	1
1.2. Vorkommen und Freisetzung von Histamin beim Menschen	4
1.3. Orte der Histaminspeicherung	7
2. Ziel der Arbeit	10
3. Material und Methodik	11
3.1. Material	11
3.1.1. Versuchstiere	11
3.1.2. Pharmaka	11
3.1.3. Reagenzien	11
3.2. Experimentelles Modell	14
3.3. Histaminbestimmung im Vollblut und im Plasma des Hundes	14
3.3.1. Vorkehrmaßnahmen bei der Blutabnahme für die Plasmahistaminbestimmung	15
3.3.2. Die Bestimmung von Histamin im Gesamtblut (Dowex-Methode)	16
3.3.3. Bestimmung von Histamin im Plasma (kombinierte Methode)	17
3.4. Die Bestimmung der Magensaftsekretion bei Hunden	18
3.5. Bestimmung des Blutbildes im peripheren venösen Blut	18
3.6. Messung des Blutdruckes bei Hunden	19
3.7. Durchführung einer Sektion bei Hunden	19
3.8. Haemalaun-Eosin-Doppelfärbung (nach Romeis, 1968)	19
3.9. Statistik	19

	Seite
4.	Ergebnisse 20
4.1.	Cremophor El-Wirkung auf den Hund 20
4.1.1.	Makroskopische Betrachtung der einzelnen Organe 20
4.1.2.	Mikroskopische Befunde 22
4.2.	Magensaftsekretion beim Hund nach Injektion von Cremophor El 22
4.3.	Die Wirkung des Cremophor El auf den arteriellen Blutdruck 26
4.4.	Die Wirkung von Cremophor auf das große und kleine Blutbild 26
4.5.	Histaminfreisetzung im Hund durch Cremophor El 32
4.6.	Histamingehalte im Blut verschiedener Gefäß-areale nach Gabe von Cremophor El 32
4.7.	Versuche mit Cremophoranalogen 35
4.7.1.	Das Auftreten von Nebenwirkungen auf verschiedene Netzmittel und Todesfälle der Hunde 35
4.7.2.	Blutdruckreaktionen und Histaminfreisetzung nach Verabreichung verschiedener Netzmittel 37
5.	Diskussion 39
6.	Zusammenfassung 44
7.	Literaturverzeichnis 46

1. EINLEITUNG

1.1. Cremophor El

Cremophor El (Abb. 1) wird als Lösungsvermittler verschiedener Substanzen benutzt (Abb. 2), die in wässrigen Medien fast unlöslich sind. Unter diesen Verbindungen finden sich Narkosemittel, wie Propanidid (Epontol^R) (Lorenz 1972 und 1972 a), Althesin (Doenicke, 1973), Steroide und die Vitamine A, D, E, K₁. Weiterhin wird Cremophor El in der Kosmetikindustrie als Lösungsvermittler für Parfüme und als Bindemittel für Pasten benutzt.

Zwei Gründe sind es, weshalb Cremophor El in der pharmazeutischen Industrie Verwendung findet :

- a) Es ist ein nicht-ionisches Netzmittel mit einer sehr günstigen kritischen Mizellkonzentration (0,2 g/l).
- b) Es hat eine geringe Toxizität beim Menschen und verschiedenen Labortieren, wie z. B. dem Schwein, dem Kaninchen und der Ratte (Lorenz et al. 1971).

Von experimentellem Interesse war es, daß Cremophor El bei Hunden, ebenfalls bei Katzen ein äußerst wirkungsvoller Histaminliberator war (Lorenz et al. 1971, 1972, 1972 a und 1975).

Die fluorometrische Messung des Gewebshistamins nach Gabe von Cremophor El zeigte eine Abnahme des Histamingehaltes in den verschiedenen Geweben, so z. B. Haut und Magen-Darm-Trakt (Lorenz et al. 1973), als auch eine Abnahme der Mastzellzahl in den gleichen Geweben (Reimann, 1973).

Mit Cremophor El war somit der beste bekannte Histaminliberator gefunden, der Histamin sowohl aus typischen als auch atypischen Mastzellen liberierte, er liberierte Histamin aus der Haut und aus dem Gastrointestinaltrakt.

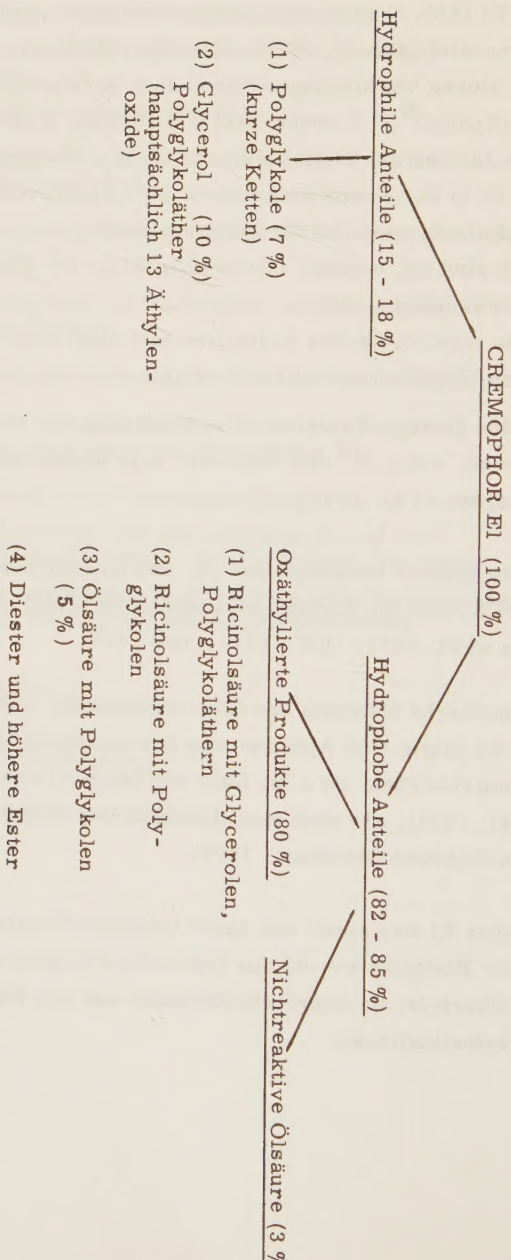


Abb. 1: Die Zusammensetzung von Cremophor EI

Anaesthetika

- Propanidid (Epontol^(R))
- Althesin (CT 1341 "Glaxo")

Steroid-hormone

- Östrogenderivate
- Cortisonderivate

Vitamine

- Vitamin A, D, E

Kosmetika

Pasten

Abb. 2 : Medikamente und Zusammensetzungen,
die in Cremophor El gelöst sind zur
parenteralen Verabreichung.

1.2. Vorkommen und Freisetzung von Histamin beim Menschen

Histamin ist ein pharmakologisch hochwirksames Gewebshormon, das ubiquitär im menschlichen und tierischen Organismus vorkommt. Chemisch gehört es zur Gruppe der biogenen Amine, wozu auch die Catecholamine und das Serotonin zählen. Histamin entsteht im Organismus durch Decarboxylierung aus der Aminosäure L-Histidin. Beim Menschen und beim Tier wird das Histamin in erster Linie durch oxydative Desaminierung der Seitenkette oder durch Methylierung in Stellung 1 des Imidazolkernes inaktiviert. Im Gewebe wird das Histamin im inaktiven Zustand gespeichert. Es sind in erster Linie die Mastzellen, die das Histamin speichern.

Das biologisch sehr aktive Histamin stimuliert beim Menschen Magensaft und Speichelsekretion, senkt den arteriellen Blutdruck, verursacht Tachykardie, steigert die Gefäßpermeabilität im Mikrozirkulationsbereich. Die glatte Muskulatur von Bronchien und des Gastrointestinaltraktes werden kontrahiert (Lorenz und Pfleger, 1968). Wie aus Tabelle 1 zu erkennen ist, sind verschiedene Schwellenkonzentrationen des Histamins im Plasma notwendig, um zu Reaktionen des Histamins im Körper zu führen. Die empfindlichste Reaktion auf Histamin ist die Stimulierung der Magensaftsekretion. Sie tritt bei 1 - 3 ng/ml Plasmahistamin auf. Es folgt die Beschleunigung der Herzfrequenz bei 4 - 6 ng. Eine signifikante Blutdrucksenkung tritt bei Plasmahistaminkonzentrationen von 6 - 10 ng/ml auf. Zum Herzstillstand kommt es jedoch erst bei Werten um 100 ng Plasmahistamin.

Wie Lorenz und Doenicke (1973) mitteilten, kam es zur Histaminfreisetzung nach Gabe von Atropin, Thiopental, Muskelrelaxantien, Analgetika und Propanidid, aber auch nach Infusion von Plasma-substituten (Lorenz et al. 1974).

Histamin- konzentrationen (ng/ml)	Physiologische und pathophysiologische Reaktionen
0 - 1	Keine Reaktionen (Normalwerte)
1 - 2	Magensäuresekretion
3 - 5	Anstieg der Herzfrequenz
6 - 8	Abfall des arteriellen Blutdrucks
7 - 12	Bronchospasmus
über 100	Herzstillstand

Tab. 1 : Biologische Reaktionen beim Menschen nach Erhöhung
der venösen Plasmahistaminkonzentration (Schwellen-
werte)

Normalpersonen reagieren auf Anaesthesie- und andere prä- oder intraoperative Maßnahmen wie Blutersatzmittel, Analgetika oder Muskelrelaxantien mit einer nur geringfügigen Histaminfreisetzung. Bei Patienten trat in einzelnen Fällen unter verschiedenen pathophysiologischen Bedingungen wie Operationen, Sepsis, Störung der Blutgerinnung und Fibrinolyse eine massive Histaminfreisetzung auf. (Lorenz et al. 1974). Diese Histaminfreisetzung war mit einer schweren anaphylaktoiden bzw. anaphylaktischen Reaktion begleitet.

Die Histaminfreisetzung ist möglicherweise auch von großer Bedeutung bei der Entwicklung postoperativer Streßulzera, wie dies Seidel et al. (1973) postulierten. Um beim Menschen durch exogenes Histamin Magenerosionen zu erzeugen, genügt nach Katz und Siegel (1968) eine Dosis, die eine mittlere Magensaftsekretion verursacht.

Aufgrund der Ergebnisse von Lorenz und Doenicke (1973) gibt es keinen Zweifel mehr, daß nach Gabe von Propanidid es zu anaphylaktoiden Reaktionen beim Menschen kommt. Schon während der ersten 2 Minuten nach Propanididinjektion kam es zur Steigerung der Pulsfrequenz. Der systolische und diastolische Druck fiel signifikant während der ersten 2 Minuten ab. Da dies vor dem Maximalanstieg des Histaminspiegels war, ist es unwahrscheinlich, daß die initiale Tachykardie und die akute periphere Hypotension mit der Freisetzung von Histamin in das Plasma etwas zu tun haben.

Während bei Normalpersonen eine intravenöse Injektion von Propanidid nur zu einer Magensäuresteigerung führt, das Kreislaufsystem aber nicht beeinflußt wird, kann bei Personen mit abnormalen Histaminverhältnissen, so z. B. bei Personen mit allergischer Diathese, die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden, daß nach Gabe von Propanidid es in diesen Fällen zu einer Freisetzung von größeren Histaminmengen führt, die dann schwere Kreislaufzwischenfälle verursachen.

1.3. Orte der Histaminspeicherung

Die Mastzellen speichern in erster Linie das Histamin. Es hat lange gedauert, bis man näheres über diese Zellen in Erfahrung bringen konnte. Sie sind nur mit einer Spezialfärbung sichtbar zu machen, so z. B. mit basischen Farbstoffen wie dem Toluidinblau. Die Zellen färben sich metachromatisch mit Toluidinblau, d. h. sie haben einen Farbumschlag gegen den kurzwelligen Bereich. Im histologischen Präparat sind dann die rotgefärbten Zellen auf blauem Grund leicht auszumachen.

Die unterschiedliche Organ- bzw. Gewebemanifestation der Histaminfreisetzung durch verschiedene basische oder hochmolekulare Substanzen ließ die Einteilung von Histaminspeichern neu überdenken, da die physiologische Funktion von Histamin eng mit der Speicherung verbunden sein kann. 1966 unterteilten Brodie et al. die Histaminspeicher in Mastzell- und Nichtmastzellspeicher. Als Nichtmastzellspeicher wurden Zellen benannt, die zwar Histamin speicherten, sich aber nicht mit basischen Farbstoffen anfärbten. Lorenz et al. (1969) konnten nachweisen, daß der Hund im Magen-Darm-Trakt überwiegend atypische Mastzellen und nur 20 % typische Mastzellen hat. Als typisch wurden die Mastzellen bezeichnet, die nach 48/80-Gabe Histamin freisetzten.

Die Hauptspeicherorgane, die den größten Histamingehalt haben, sind der Gastrointestinaltrakt, die Lunge und die Haut. Im Gastrointestinaltrakt ist Histamin vor allem im Magen und im Dünndarm lokalisiert (Lorenz et al. 1973 b)

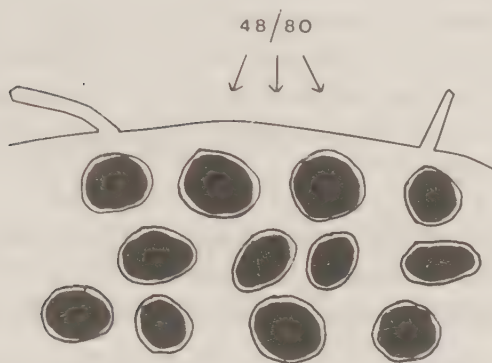
Nach 48/80-Gabe fanden Feldberg und Talesnik (1953) eine Histaminfreisetzung aus Mastzellen der Haut des Hundes, jedoch konnte aus der Magenschleimhaut kein Histamin liberiert werden. Aus typischen und atypischen Histaminspeichern kann das Histamin durch eine große Anzahl von Pharmaka freigesetzt werden. Dies kann aber auch eine physiologische Wirkung sein, wie bei der Sekretion verschiedener Drüsen, der Speichelsekretion (Lorenz et al. 1972) und der Magensaftsekretion (Lorenz et al. 1970).

Bis heute konnte der Mechanismus, wie Histamin aus der Mastzelle freigesetzt wird, nicht vollständig geklärt werden. Lagunoff et al. (1964) und Uvnäs et al. (1971) konnten elektronenmikroskopisch einiges über den Wirkmechanismus von 48/80 gegenüber der Mastzelle zeigen : Nach Gabe von 48/80 kommt es an der Mastzelloberfläche zu einer strukturellen Veränderung, so daß die einzelnen Granula innerhalb der Mastzelle nach außen in die Umgebung abgegeben werden können (Abb. 1).

Anrep et al. (1953) fanden, daß Gallensalze zum Beispiel aus der Leber des Hundes massiv Histamin freisetzen. Diese Stoffe gelten als oberflächenaktive Substanzen. Durch Gabe von Tubocurarin kam es zu einer Histaminfreisetzung aus der Muskulatur und der Haut des Hundes, wie es z.B. von MacIntosh und Paton (1949) beschrieben wurde.

1975 berichteten Clarke und Mitarbeiter von 100 abnormen Reaktionen auf Althesin in England. Die Reaktion auf Propanidid und Althesin stieg bis zu 1 : 1 000 und 1 : 7 000 Verabreichungen an (Lorenz 1972 und Zindler 1973). Bedenkt man die große Zahl von Narkosen pro Jahr in jedem Land Europas, so wird die klinische Problematik deutlich, die aus solchen epidemiologischen Studien hervorgeht. Sowohl Propanidid als auch Althesin sind in Cremophor El "gelöst". Lorenz und Mitarbeiter (1972) konnten nachweisen, daß Cremophor El allein verabreicht beim Menschen unwirksam ist. Erst in Kombination mit anderen "Narkosemitteln" kann es wahrscheinlich ein starker Histaminliberator beim Menschen werden.

FREISETZER WIRKT AUF DIE MAST-
ZELLMEMBRAN



MAST-ZELLE DEGRANULIERT

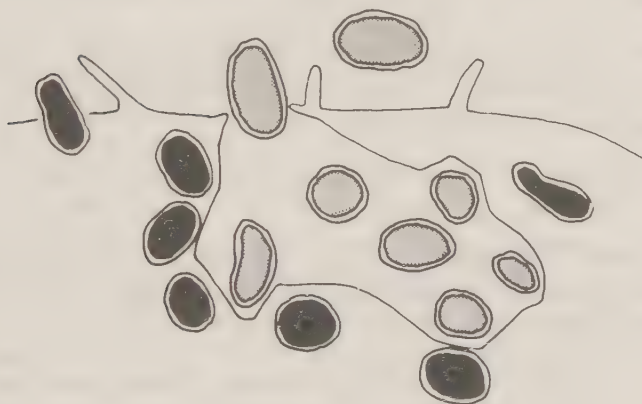


Abb. 3 : Wirkung von 48/80 auf die Mastzellmembran.
Granula werden in die Umgebung freigesetzt.
(Uvnäs und Mitarbeiter, 1971)

2. ZIEL DER ARBEIT

Aus der Klinik wurden Zwischenfälle mit Medikamenten bekannt, deren Lösungsvermittler Cremophor El war. Cremophor El beim Menschen allein appliziert zeigte kaum Nebenwirkungen, aber in Kombination mit Anästhetika und anderen Mitteln kam es zu einer Freisetzung von Histamin.

1. Es sollte untersucht werden in welchen Organen es nach Cremophor zu pathologisch-anatomischen Veränderungen kommt, es wurden deshalb histologische Kontrollen mehrerer Organe durchgeführt.
2. Da es nach Cremophor El zu einer signifikanten Histaminfreisetzung im Gewebe gekommen war, untersuchten wir den Histamingehalt im Plasma und im Vollblut.
3. Gleichzeitig wurde die Magensaftsekretion bei Hunden untersucht, ob es parallel zu der Plasmahistaminerhöhung auch zu einer Magensaftstimulierung kommt.
4. Gleichzeitig sollte die Wirkung von Cremophor auf den arteriellen Blutdruck untersucht werden.
5. Inwieweit es zu einer Änderung des großen und kleinen Blutbildes nach Cremophor El-Gabe kommt, wurde an einer großen Serie von Blutaussstrichen untersucht.
6. In festgelegten Zeitabschnitten wurde die Histaminkonzentration aus bestimmten Gefäßarealen untersucht.
7. In einer kontrollierten Studie wurden die insgesamt 16 Zusammensetzungen oder Mischungen von Cremophor El am Hund getestet. Es galt den Bestandteil des Cremophor herauszufinden, der für die schweren Zwischenfälle beim Menschen verantwortlich ist. Da der Hund sich gegenüber Cremophor El als empfindlich erwiesen hatte, war es das geeignete Versuchstier.

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1. Material

3.1.1. Versuchstiere (Tab. 2)

Hund : Bastard-Hunde, 16 - 36 kg, beiderlei Geschlechts.

Gefüttert wurden die Tiere einmal am Tag - Futter : Heimtierkost "Peka Dog" (Peter Kölln-Werk, Elmshorn), Wasser ad libidum. Die Tiere wurden in Spezialkäfigen (Süße und Schmitt, Kassel) untergebracht.

3.1.2. Pharmaka

Propanidid 5 % (Bayer, Leverkusen) (Epontol^R) :

Eine Ampulle besteht aus Propanidid (5 %), Mizellophor (20 %), Natriumchlorid, Phosphatsalzen sowie Wasser, hergestellt nach Anweisungen der Herstellerfirma.

Cremophor El (Tab. 3)

Die Ampulle besteht aus 20 % ORPE (oleum ricini, polyoxyäthylate, Elberfeld), Natriumchlorid, Phosphatsalzen und Wasser (von den Herstellern festgesetzt). Mizellophor enthält die hydrophoben Anteile des Cremophor El (BASF, Ludwigshafen). Cremophor besteht aus Ricinolsäure, Polyglycolestern, Glycerin und Polyglycoläthern.

3.1.3. Reagenzien

Histamindihydrochlorid puriss. (Fluka, Buchs), O-Phthaldialdehyd (umkristallisiert in Petroläther, SP 40 - 70 Grad C) (Fluka, Buchs).

Dowex 50 WX 8, H⁺ 200 - 400 Mesh (SERVA, Heidelberg).

n-Heptan, anorganische Säuren und Basen als Uvasol^R (Merck, Darmstadt). 0,1 M NaOH zur Titration des Magensaftes (Titrisol^R, Merck, Darmstadt). Türks-Lösung zur Leukocytenzählung (Essigsäure - Gentianaviolett, May Grünwaldslösung) (Eosin-Methylenblau) und Gilmsa-Lösung (Azur-Eosion-Methylenblau) Merck, Darmstadt.

Parameter	1	2	3	4	5	6	7	8
Geschlecht	m	5	3	6	3	3	4	3
	w	3	5	2	5	5	4	5
Gewicht	16+8	17+6	17+8	26+8	18+7	20+7	22+9	20+9
Systolischer Blutdruck (Ausgang)	142+29	153+22	143+34	154+33	148+36	158+31	145+37	158+29

Tab. 2 : Eigenschaften der Hundegruppen : Eine Serie von 64 Bastardhunden. Die Kollektive gleichen sich weitgehend.

Nummer	Zusammensetzung oder Mischung	Chemische Charakterisierung
1	Tween 80	Polyoxyäthylen-sorbit-
2	Cremophor El 0963	Allgemein verwendete batch
3	Cremophor El 758	Batch mit einer weniger akuten Toxizität
4	Cremophor El 1948	Batch mit einer höheren akuten Toxizität
5	Cremophor El 0963 (gereinigt)	Batch 0963 mit Oxygen behandelt
6	Cremophor RH 40, 43	Oxäthylierte hydrierte Ölsäure
7	Cremophor RH 40, 43 (gereinigt)	Batch 43, behandelt mit Wasserdampf und danach im Vakuum getrocknet
8	Mulgofen EL 620	Oxäthylierte Ölsäure, technische Qualität
9	Cremophor RH 40 (hydrophile Komponenten)	Cremophor RH 40 gelöst in Wasser und mit Äthylenchlorid gemischt. (wässrige Phase)
10	Cremophor RH 40 (hydrophobe Komponenten)	Cremophor RH 40 in derselben Weise behandelt, aber Äthylenchlorid-Phase. Äthylenchlorid wurde herausdestilliert.
11	Oxäthyliertes Glycerin	Glycerin + 14,5 ÄO
12	Oxäthylierte Ricinolsäure	Ricinolsäure + 14,5 ÄO
13	Oxäthylierte Ölsäure	Ölsäure + 15 ÄO
14	Oxäthyliertes Glycerin, Monoölsäureester	Ester + 20 ÄO
15	Lutensol AP 10	Nonylphenol + 10 ÄO

ab. 3 : Zusammensetzungen und Mischungen, die ausgewählt wurden, um das Prinzip der Histaminfreisetzung (s) in Cremophor El zu untersuchen. Die Zahlen hinter den Mitteln sind die der entsprechenden Mengen. ÄO- Äthylenoxid, die Zahl vor ÄO beschreibt die Hauptpolymerisation.

Entellan, Formalin, Kanadabalsam, Cedax, Trichloressigsäure, Sublimat, Chloroform, Eisessig (Merck, Darmstadt).

Wenn nicht anders vermerkt, wurde nur doppelt destilliertes Wasser verwendet.

Trispuffer für biochemische Bestimmungen (Boehringer & Söhne, Mannheim), Haemalaun (Kliniksapotheke), Eosin (Merck, Darmstadt), Alkohol (70 %, 96 % und absoluter) (Kliniksapotheke).

3.2. Experimentelles Modell

Es wurden zwei Versuchsserien zu je 64 ausgewachsenen Bastard-Hunden durchgeführt. Alle Tiere wurden mit 15 - 25 mg/kg Pento-barbital (i.v.) narkotisiert.

Die Hunde wurden in Rückenlage auf den OP-Tisch gelegt. Sie atmeten spontan. Die linke Femoralarterie wurde freipräpariert, dann mit einem Katheter kanüliert und mit einem Statham-Druckwandler in Verbindung gebracht, um so den peripheren arteriellen Blutdruck zu messen. Zur Injektion von Medikamenten bzw. zur Abnahme von Blut für die Histaminbestimmungen wurden mittels Laparotomie 4 Katheter in verschiedene Gefäße eingeführt:

Einmal in die intrahepatische v. cava inferior, die abdominale Aorta, genau unter dem Zwerchfell, die v. porta, vor dem Lebereingang und in die v. hepatica. Das Abdomen wurde sorgfältig 30 Minuten verschlossen. Dann wurde 0,1 ml/kg Cremophor El in die v. cava inferior injiziert.

Das Blut wurde vor der Injektion bei maximalem Blutdruckabfall und 5, 10, 20, 30 und 60 Minuten später simultan aus den 4 Kathetern abgenommen.

METHODEN

3.3. Histaminbestimmung im Vollblut und im Plasma des Hundes

Aus der Femoralvene wurden 5 ml Blut mit einer Polyäthylenkanüle entnommen. Dieses Blut wurde in ein Zentrifugenglas mit 5 ml

1 M HClO_4 gegeben und dann 5 Minuten lang bei 1800 U zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit kann mehrere Tage in einer Kühltruhe bei - 20 Grad aufbewahrt werden und später für die Histaminbestimmung verwendet werden.

Sofort nach der Entnahme der Blutproben für die Histaminbestimmung im Vollblut wurden zwei weitere Proben für die Histaminbestimmung im Plasma abgenommen. Man benötigt für jede Probe 19,5 ml Blut, die langsam abgenommen wurden und mit größter Sorgfalt mit einer Polyäthylen-Spritze, die mit 2 mg Heparin in 0,5 ml einer 0,9 %igen NaCl-Lösung gemischt wurden. Das gewonnene Blut wurde unter vorsichtigem Druck in ein 30 ml Polyäthylen-Zentrifugenglas gegeben, das in einem eiskühlten Wasserbad vorgekühlt war. Das Blut wurde 30 Minuten bei 1000 U und 1 - 2 Grad C zentrifugiert. Es wurden 6 ml Plasma gewonnen. Oberhalb der Trennzone zwischen Plasma und corpusculären Elementen verblieb eine Zone von 1 cm Plasma, in der sich einige Thrombocyten und gelegentlich auch Leukocyten suspendiert befanden. Die Probe wurde dann mit 2 ml 2 M HClO_4 gemischt und 10 Minuten bei 1800 U zentrifugiert. Der Überstand wurde als ganzes entweder sofort für die Histaminbestimmung verwendet oder in einem Gefrierschrank bei -20 Grad zur Histaminbestimmung aufbewahrt.

3.3.1. Vorkehrmaßnahmen bei der Blutabnahme für die Plasma-histaminbestimmung

- a) Auf keinen Fall darf Blut für die Plasmahistaminbestimmung aus einer gerade neu angestochenen Vene entnommen werden. Ungefähr 5 ml Blut sollten vorher verworfen sein, bevor die Plasmaprobe abgenommen wird.
- b) Eine Erwärmung der Blutprobe über 5 Grad C während der Herstellung des Plasmas soll vermieden werden, weil ein Anstieg des Histamins im Plasma auf doppelte Werte bei 8 Grad C gefunden wurde. Am vorteilhaftesten befindet sich die Kühlzentrifuge dort, wo auch das Blut abgenommen wird.

- c) Bei der beschriebenen Sammelmethode ist es außergewöhnlich selten, daß eine Hämolyse auftritt. Die Histaminkonzentration im Plasma steigt ungefähr 3 - 4 mal höher an in hämolytischen Proben als in nicht hämolytischen Proben. Daher sollten Blutproben mit Hämolyse verworfen werden.

3.3.2 Die Bestimmung von Histamin im Gesamtblut (Dowex-Methode)

4 ml des Perchlorsäure-Gesamtblut werden auf ein pH von 6,5 mit 2 NaOH unter Verwendung einer Glaselektrode eingestellt und auf eine kleine Säule mit Dowex 50 W-X 8, H^+ (0,3 x 2 cm) aufgetragen, die mit 0,1 M Natriumphosphatpuffer (pH 6,5) equilibriert ist. Die Säule wurde dann nacheinander mit 0,1 M Natriumphosphatpuffer (pH 6,5) 1 ml doppelt destilliertem Wasser und mit 5 ml 1 M Salzsäure gewaschen.

Histamin wurde mit 3 ml 4 M Salzsäure eluiert. Für die fluorometrische Bestimmung wurde das Eluat mit dem gleichen Volumen zweifach destilliertem Wasser verdünnt.

1,0 ml dieses verdünnten Eluates wurde mit 0,5 ml 5 M Natriumlauge und mit 0,1 ml o-Phthaldialdehyd (1 % W/V in Methanol) gemischt. Genau 2 Minuten später wurden 1,0 ml einer 1 M H_3PO_4 zugegeben und die Fluoreszenz in einem Zeiss-Spektro-Fluorometer bei einer Temperatur von $21 \pm 0,5$ Grad C gemessen. Die Anregungswellenlängen waren 360 nm, die Fluoreszenzwellenlänge 450 nm. Die Fluoreszenz war für mindestens 1 Stunde stabil. Die Intensität war direkt proportional der Histaminkonzentration in einem Bereich von 1 - 700 ng Histamindihydrochlorid/ml des verdünnten Eluates. Von hinzugefügtem authentischen Histamin wurden auf diese Weise 95 - 100 % wiedergefunden.

3.3.3. Bestimmung von Histamin im Plasma (kombinierte Methode)

Der gesamte Perchlorsäureextrakt von menschlichem Plasma wurde auf pH 6,5 eingestellt und an Dowex 50, wie oben beschrieben, chromatographiert. Das verdünnte Eluat der Säule wurde dann auf pH 11,5 bis 12 mit 5 M NaOH unter Verwendung einer Glaselektrode eingestellt und mit einer Schüttelmaschine (Bühler) 20 Minuten lang in einem 25 ml Erlenmeyerkolben mit Glasstopfen mit 1,5 g Natriumchlorid und 10 ml n-Butanol geschüttelt. Unter Modifizierung der Methode von SHORE et al. (1959) wurde dann die Mischung 5 Minuten lang bei 1 800 xg zentrifugiert und die organische Phase abgezogen und 2 Minuten lang mit 5 ml kochsalzgesättigter 0,1 M NaOH in einem 25 ml Erlenmeyerkolben mit Glasstopfen geschüttelt.

Nach 5 Minuten Zentrifugieren der Mischung bei 1 800 xg wurde das Histamin wieder in die wässrige Phase durch Schütteln von 8 ml der organischen Phase zusammen mit 3 ml einer 0,1 M HCl und 15 ml n-Heptan mindestens 6 Minuten in einem 50 ml Erlenmeyerkolben mit Glasstopfen aufgenommen. Diese Mischung wurde daraufhin 5 Minuten lang bei 1 800 xg zentrifugiert. Die organische Phase wurde durch sorgfältiges Absaugen entfernt. 2 ml der wässrigen Phase wurden in einer Testküvette in einem 21 Grad C Wasserbad gemischt und mit 0,4 ml 1 M NaOH und 0,1 ml o-Phthaldialdehyd (0,05 %), W/V in Methanol gelöst. Nach genau 4 Minuten wurden 0,2 ml 3 M Salzsäure hinzugefügt und die Fluoreszenz bei derselben Wellenlänge und Temperatur, wie oben beschrieben, gemessen.

Die Intensität der Fluoreszenz des säurestabilisierten Kondensationsproduktes blieb konstant für mindestens 30 Minuten und war direkt proportional der Histaminkonzentration im Bereich von 0,2 - 80,0 ng/ml einer 0,1 M Salzsäure.

3.4. Die Bestimmung der Magensaftsekretion bei Hunden

Die Hunde wurden 24 Stunden nüchtern gehalten. Die Untersuchungen wurden an mit Pentobarbital narkotisierten Hunden mit einer akuten Magenfistel durchgeführt.

Die Tiere wurden laparotomiert, der Pylorus aufgesucht. 2 cm unterhalb wurde das Duodenum eröffnet und ein Polyäthylenkatheter (mit einem Lumen von 1,5 cm) wurde 5 cm über dem Sphinkter des Pylorus geschoben. Der Katheter war so gearbeitet, daß das im Magen befindliche Ende mehrere seitliche Öffnungen in der Schlauchwand hatte. Der Schlauch wurde mittels Tabaksbeutelnaht im Duodenum fixiert und durch die seitliche Bauchwand nach außen geleitet. Nach vollständiger Entleerung des Magens durch manuelles Absaugen mit einer Spritze und weiterer Prüfung der Sondenlage durch Instillation von 20 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung, die vorher auf 37 Grad C erwärmt worden war und Reaspiration derselben wurde die Basalsekretion über 30 Minuten durch Absaugen in Intervallen von 5 Minuten gesammelt. Anschließend wurde Cremophor injiziert (0,2 ml/kg Cremophor El). Der Magensaft wurde jeweils alle 5 Minuten bis zur 60. Minute abgesaugt. Dies entsprach zeitlich der Blutabnahme zur Histaminbestimmung. Dann wurde das Volumen des Magensaftes bestimmt und nach Titration mit 0,1 M NaOH die Säuremenge der einzelnen Sekretportionen ermittelt. Die Säuremengen wurden in mval HCl/Min. angegeben.

3.5. Bestimmung des Blutbildes im peripheren venösen Blut

Entsprechend den Zeiten der Blutabnahme für die Histaminbestimmung und in unmittelbar vor der Injektion des Narkotikums sowie 30, 60 Min., und stündlich bis zur 9. Std. Danach wurden je 2 Ausstriche mit dem venösen Blut durchgeführt. In denselben Blutproben wurden die Gesamtzahl der Leukocyten bestimmt (Müller et al. 1962) und die Blutbild-differenzierung nach Pappenheim mit einer Auswertung von jeweils 1000 Zellen vorgenommen.

Es wurde an Hunden ein 3 Tage-Versuch durchgeführt. Cremophor El wurde dabei den Tieren am Morgen, jeweils zur gleichen Zeit in steigender Dosis verabreicht (1, 2, 3 ml/kg). Die steigenden Dosen wurden gegeben, um einer Tachyphylaxie vorzubeugen. Leertiere bekamen physiologische Kochsalzlösung in gleicher Menge.

3.6. Messung des Blutdruckes bei Hunden

Der periphere arterielle Blutdruck wurde in der arteria carotis communis mit einem Ludwig Mercury-Manometer gemessen und auf einem Kymographen registriert.

3.7. Durchführung einer Sektion bei Hunden

Die Haut der Tiere wurden thoracal und abdominell mittels Medianschnitt eröffnet. Die Rippen wurden freipräpariert und an der Rippenknorpelgrenze zerschnitten. Es folgte die Herausnahme des Herzens und des Lungenpaketes. Dann das Herauspräparieren der Bauchorgane: Leber, Magen, Milz, Pankreas und Duodenum. Der Darm wurde insgesamt herausgeschnitten. Als letztes wurden die Retroperitonealorgane (Niere und ableitende Harnwege) herausgenommen.

3.8. Haemalaun-Eosin-Doppelfärbung (nach Romeis, 1968)

Die HE-Färbung dient zur diagnostischen Kontrolle mit der Frage einer evtl. histologischen Veränderung. Die ungefähr 5 µ dicken Schnitte wurden nach der Entparaffinierung für 10 Minuten in Haemalaun-Lösung belassen. Es folgte eine gründliche Spülung in Leitungswasser. Als nächster Schritt folgte die mäßige Überfärbung in einer 0,1 %igen wässrigen Lösung von Eosin für 60 Sekunden. Danach Abspülen in destilliertem Wasser. Für jeweils 3 Minuten wurden die Schnitte zum Differenzieren in der absteigenden Alkoholreihe, 70 %igem, 96 %igem und absolutem Alkohol (Kliniksapotheke) für jeweils 3 Minuten belassen. Anschließend Eindecken der Schnitte in Entellan.

3.9. Statistik

Die statistische Signifikanz der Ergebnisse wurde mit dem Student-t-Test für unpaare Daten und für gepaarte Daten berechnet (Snedecor und Cochran, 1967). Für diese Berechnung wurde ein Olivetti-Tischcomputer (Programm 102) verwendet.

4. ERGEBNISSE

4.1. Cremophor El - Wirkung auf den Hund

Mit Cremophor El (Abb. 1) wurde ein Stoff gefunden, der beim Hund interessante klinische Symptome zeigte. Alle Tiere, denen Cremophor El injiziert wurde, zeigten heftige Kreislaufreaktionen in Form von Blutdruckabfall, deutliche Rötung verschiedener Hautareale, Bronchospasmus, akut massive, wässrig-gallige Durchfälle und Erbrechen. Die Tiere zeigten starke Benommenheit, sie waren nicht mehr in der Lage zu stehen (Abb. 4, 5), hatten Speichelhypersekretion und kolikartig auftretende Magen-Darmkrämpfe. Bei der Sektion der Tiere fielen hämorrhagische Erosionen im Magen-Darm-Trakt auf, weiter eine Zyanose des Darmes sowie Anzeichen einer thrombohämorrhagischen Pankreatitis.

4.1.1 Makroskopische Betrachtung der einzelnen Organe

Herz : Geringgradige Vergrößerung der re. Kammer und des re. Vorhofs, was auf ein geringgradiges Cor pulmonale schließen läßt.

Lunge : Beim Öffnen des Thorax sanken die Lungen nicht zurück, sondern sie füllten den halben Thoraxraum aus. Der Fingerdruck hinterließ eine Delle, die Farbe der Lunge war dunkelrot-grau. Makroskopisch konnte man einmal ein Lungenemphysem der oberen Anteile erkennen, zum anderen atelektatische Bezirke der unteren Anteile, die für ein Lungenödem sprachen.

Leber : Gespannte Kapsel, dunkelrot gefärbtes Organ von fester Konsistenz. Beim Einschneiden floß Blut aus den gering erweiterten Sinusoiden ab. Aus diesem makroskopischen Befund darf eine akute Stauung ersehen werden, die beim Hund mit einem nach Histaminfreisetzung entstehenden "out-flow-block" zu erklären ist.

Magen : Deutlich gerötete Schleimhaut, jedoch kein pathologischer Befund.



Abb. 4 + 5 : 2 Hunde nach intravenöser Cremophor - Gabe.
Die Hunde waren nicht mehr in der Lage zu stehen -
zeigten u. a. Bronchospasmus und Hauterscheinungen.

Darm : Bei allen Tieren fand sich eine z. T. massive Schleimhaut-rötung mit geringen Einblutungen des gesamten Dünndarmes (Abb. 6).

Milz und Niere zeigten makroskopisch keine pathologischen Veränderungen.

4.1.2. Mikroskopische Befunde

Die histologische Betrachtung brachte eine Bestätigung der makroskopischen Befunde. (Abb. 7, 8)

Herz : Unauffällig - keine Nekrosen nachweisbar.

Lunge : Hyperämie mit weiten z. T. knopfförmig in die Alveolarlichtung vorspringende Kapillaren. Im Lumen finden sich dicht gelagerte Erythrocyten. Es handelt sich um eine akute Stauung der Lunge.

Leber : Deutlich erweiterte Sinusoide. Zentraler Läppchenabschnitt mit stark erweiterten und mit reichlich Erythrocyten ausgefüllte Sinusoide. Kupfer'sche Sternzellen nicht vermehrt. Bei der Leber handelt es sich um eine ebenfalls akute Stauung. (Abb. 8)

Magen : Geringgradige Hyperämie der Schleimhaut, sonst keine weiteren pathologischen Veränderungen, kein Hinweis auf ein akutes Ulcus ventriculi.

Darm : Deutliche Hyperämie (hyperämische Kapillaren der Darmzotten). Keine Ulcerationen nachweisbar, jedoch eine deutliche Eosinophilie.

Milz und Niere zeigten auch mikroskopisch keine pathologischen Veränderungen.

4.2. Magensaftsekretion beim Hund nach Injektion von Cremophor El

Bei insgesamt 5 Hunden wurde im narkotisierten Zustand die Magensaftsekretion nach Cremophor-Injektion gemessen. Wie auf Tabelle zu ersehen ist, wurde bei den 5 Tieren der 30 Minuten-Wert herausgegriffen. Es ist deutlich zu erkennen, daß es gegenüber der Basalsekretion nach Gabe von Cremophor El zu einer deutlichen Steigerung des Volumens geführt hat, auch kam es zu einer deutlichen PH-Erniedrigung, von PH 5 auf PH 2. (Tab. 4)

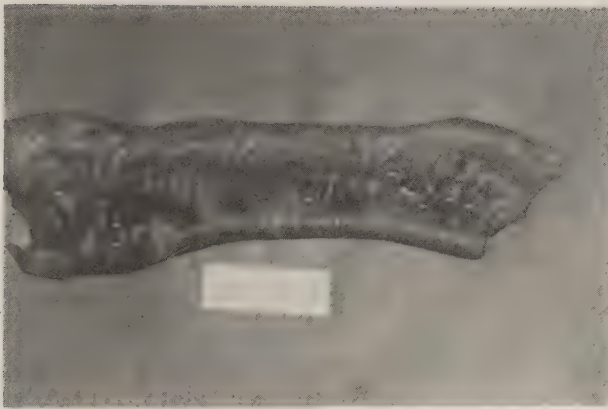


Abb. 6 : Duodenum des Hundes nach Cremophor El-Gabe.
Deutliche Einblutung in die Schleimhaut. Diese
Rötung zog sich über den gesamten Dünndarm.

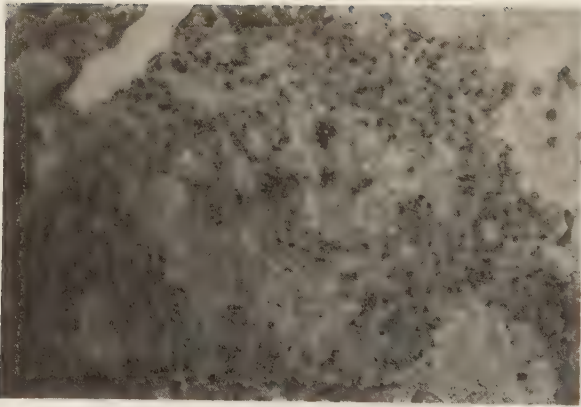


Abb. 7 : Akute Stauung der Lunge.
Hyperämie, Erythrocyten sind im alviolären Lumen
gelagert.

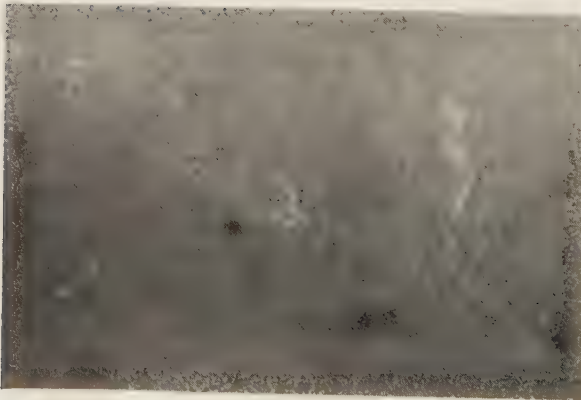


Abb. 8 : Akute Stauung der Leber.
Die erweiterten Sinusoide sind mit Erythrocyten
ausgefüllt.

Hund Nr.	Magensaftsekretion				Blutdrucksenkung (mm Hg)
	Basalsekretion		Gipfelsekretion nach Epontol-MWP		
	Volumen (ml/30 min) I	pH-Wert II	Volumen (ml/30 min) III	pH-Wert IV	
1	3,8	4,5	20,0	1,6	80
2	4,2	6,8	15,7	2,1	100
3	1,9	3,5	9,7	1,9	60
4	2,7	4,7	4,1	1,8	40
5	0,4	3,5	3,2	2,0	65
$\bar{x} \pm$ S. D.	$2,6 \pm 1,5$	$4,6 \pm 1,3$	$10,5 \pm 7,3$	$1,9 \pm 0,2$	69 ± 22

Tab. 4 : Magensaftsekretion und Hypotension bei Hunden nach Gabe von Cremophor El.

p I/III < 0,05; p II/IV < 0,01

4.3. Die Wirkung des Cremophor El auf den arteriellen Blutdruck

Wie aus der vorstehenden Tabelle zu ersehen ist, kam es parallel zu der Magensaftsekretion zu einer deutlichen Blutdrucksenkung um 70 mm Hg. Wie aus Abbildung 9 zu ersehen ist, kam es kurz nach Gabe von Cremophor zu einem deutlichen Blutdruckabfall, der sich nur langsam wieder erholte.

Gleichzeitig waren bei den Tieren natürlich, wie schon anfänglich erwähnt, auch andere Nebenwirkungen wie Bronchospasmus und der Magen-Darmsymptomatik sowie den Hauterscheinungen zu beobachten.

4.4. Die Wirkung von Cremophor auf das große und kleine Blutbild

(Abb. 10 a, b; 11 a, b)

Die Tiere, die am ersten Tag 1 ml Cremophor/kg Körpergewicht intravenös appliziert bekommen hatten, zeigten in der ersten Stunde einen deutlichen Abfall der Leukocyten bis zu 30 %. Danach kam es zu einem deutlichen Anstieg der Leukocyten auf über 70 % des Ausgangswertes. Dieser Leukocytenanstieg hielt noch deutlich nach 9 Stunden an. Erst am nächsten Tag war der Ausgangswert des Vortages wieder erreicht. Am 2. und 3. Tag kam es nach Injektion (jeweils gesteigerte Dosis) ebenfalls zu einer Abnahme innerhalb der ersten Stunde der Leukocyten, jedoch war der leukocytaire Anstieg in der Folgezeit nicht mehr so deutlich wie am ersten Tag.

Das kleine Blutbild zeigte keine signifikanten Änderungen. Wichtig war die Feststellung, daß beim Hund keine basophilen Granulocyten gefunden werden konnten, sodaß der Histamintransport im Blut nicht wie beim Menschen vonstatten geht.

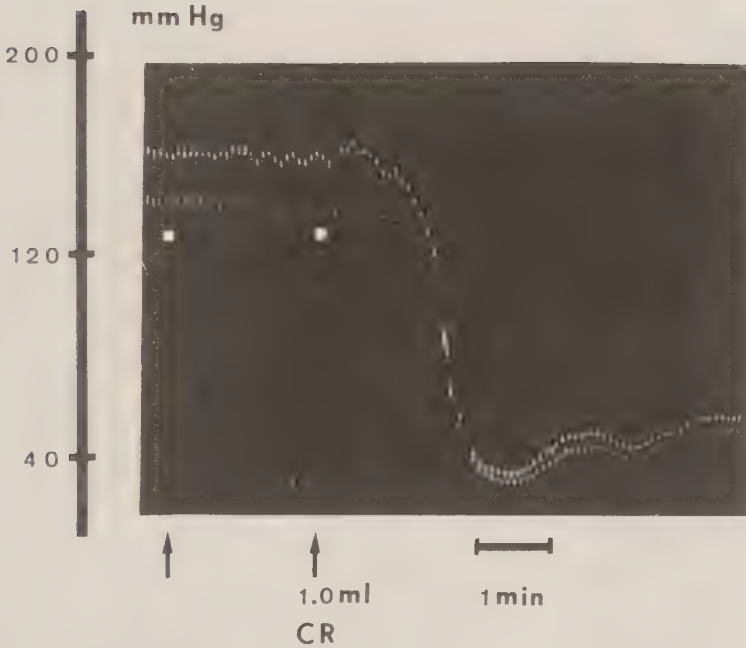


Abb. 9 : Wirkung von Cremophor El auf den Blutdruck des Hundes.
Es kommt zu einer deutlichen Blutdrucksenkung um
ungefähr 70 mm Hg.
CR = Cremophor El - Gabe.

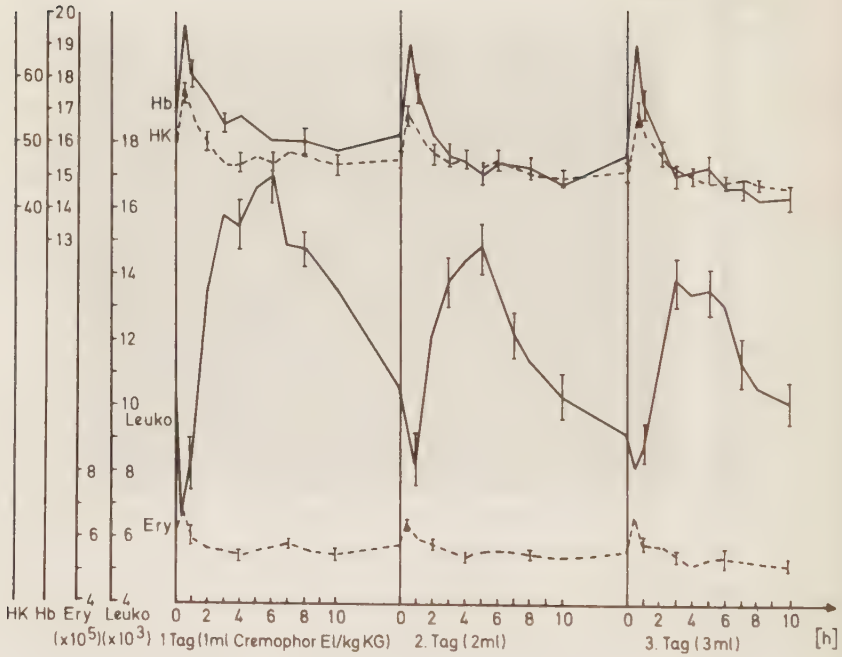


Abb. 10 a : Veränderung des großen Blutbildes bei Hunden nach -
3 Tage Cremophor El - Injektionsversuch.
Cremophor wurde den Tieren in steigender Dosis von 1, 2
und 3 ml/kg Körpergewicht jeweils am Morgen intravenös
injiziert.
 $\bar{x} \pm \text{S.D.}, n = 5$

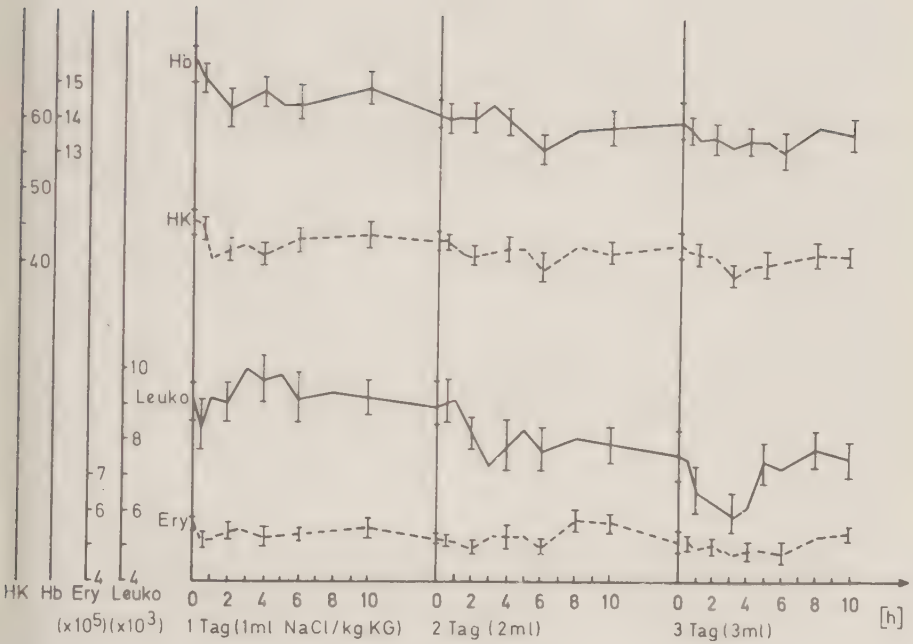


Abb. 10 b : Kontrolltiere.

Tiere erhielten anstelle von Cremophor El entsprechende Mengen von physiologischer Kochsalzlösung.

$\bar{x} \pm \text{S.D.}, n = 5$

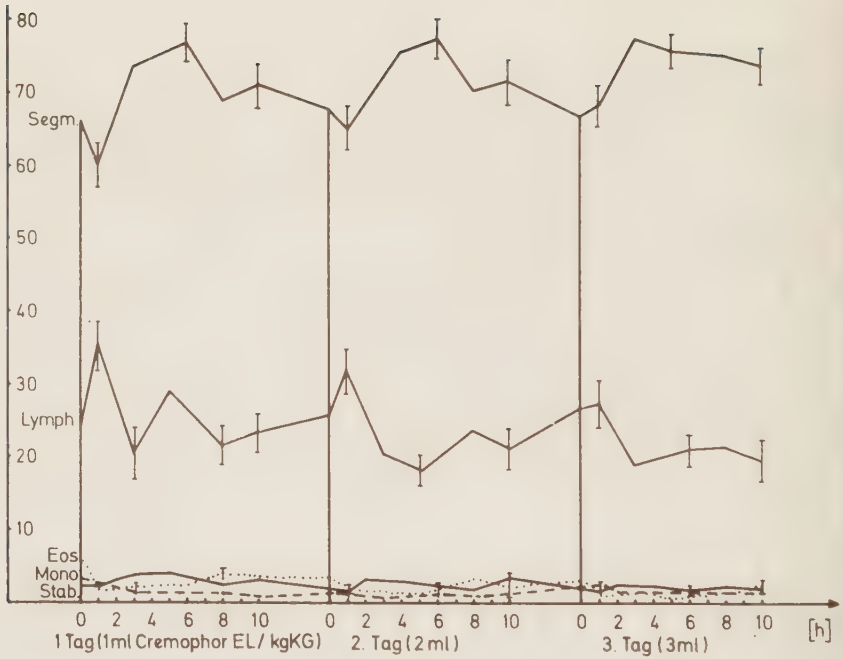


Abb. 11 a : Veränderung des kleinen Blutbildes der Hunde nach
Cremophor El - Gabe (3-Tage-Versuch) .
 $\bar{x} \pm S.D.$, $n = 5$

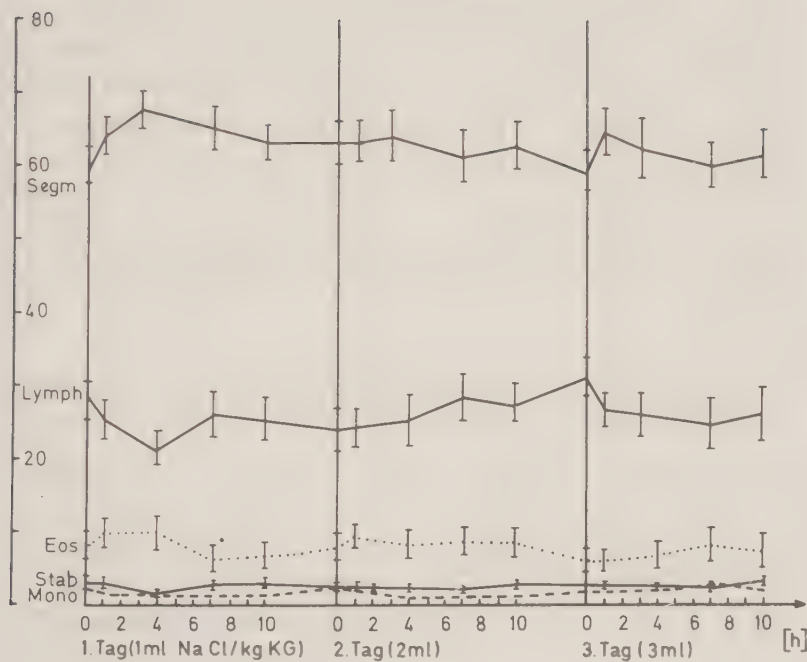


Abb. 11 b : Kontrolltiere.

Tiere erhielten physiologische Kochsalzlösung.

$\bar{x} \pm \text{S.D.}$, $n = 5$

4. 5. Histaminfreisetzung im Hund durch Cremophor El

Beim Hund war die Histaminfreisetzung so stark, daß sich schwere arterielle Hypotensionen bei den meisten Versuchstieren einstellten. Es kam zum Anstieg der Histaminkonzentration im Vollblut. Wie aus Tabelle 5 zu ersehen ist, kam es in den ersten 5 Minuten zu einem deutlichen Anstieg des Plasmahistamins, das auch nach 1 Stunde noch deutlich über dem Normalwert erhöht war. Das Vollbluthistamin hatte einen deutlichen Gipfel nach 5 Minuten und war auch nach 1 Stunde deutlich erhöht.

Die Zeitspanne von 2. - 4. Minute, also die Zeit in der das Plasmahistamin seinen Gipfel hatte, war auch die maximale Hypotension festzustellen.

4. 6. Histamingehalte im Blut verschiedener Gefäßareale nach Gabe von Cremophor El (Tab. 6)

In einer gesonderten Versuchsanordnung wurden aus 4 verschiedenen Gefäßarealen zur selben Zeit Vollblut abgenommen. Es handelte sich um die v. cava inferior, die v. porta, die vena hepatica und die aorta abdominalis. Nach Injektion von Cremophor El in die v. cava konnte ein deutlicher Vollbluthistaminspiegel in den 4 Gefäßen gemessen werden. Nur in der v. porta konnte ein Maximum der Gesamtbluthistaminkonzentration zu der Zeit beobachtet werden, als es zu einem maximalen Blutdruckabfall kam. Den Anstieg des Histaminspiegels in den anderen Gefäßarealen sah man 5 - 15 Minuten später. Der höchste Histaminwert konnte in der v. cava inferior und in der v. porta gemessen werden.

Zeit nach Injektion (min)	Histaminkonzentration (ng/ml)	
	Plasma	Whole blood
0	0,4 $\pm$ 0,1	33 $\pm$ 15
MHT 2 - 4	26,6 $\pm$ 14,0	137 $\pm$ 67
5	24,1 $\pm$ 7,6	379 $\pm$ 289
10	17,3 $\pm$ 6,8	324 $\pm$ 218
15	14,5 $\pm$ 6,8	311 $\pm$ 228
30	9,5 $\pm$ 3,7	269 $\pm$ 182
60	6,0 $\pm$ 2,8	175 $\pm$ 158

Tab. 5 :

Cremophor El-Injektion (0,4 ml/kg) in die Femoralvene des Hundes. Es kam zum Anstieg des Histamins sowohl im Plasma als auch im Vollblut.

Blutabnahme in der v. cava inferior.

MHT = maximale Hypotension

$\bar{x} \pm$ S.D. n = 5

Zeit nach MHT (min)	Histaminkonzentration (ng/ml, $n = 10, \bar{x} \pm S. D.$)			
	V. cava inferior	aorta abdominalis	vena porta	vena hepatica
0	32 ± 14	32 ± 14	35 ± 17	33 ± 16
MHT	140 ± 66^x	100 ± 59^{xx}	240 ± 210^{xxx}	83 ± 28^x
5	314 ± 240	204 ± 180	240 ± 150^x	102 ± 21
10	300 ± 240	200 ± 145	266 ± 200	145 ± 79
15	282 ± 186	105 ± 22	250 ± 220	155 ± 76
30	190 ± 140	107 ± 42	190 ± 130	118 ± 49
60	105 ± 80^{xxx}	75 ± 30^x	100 ± 61^{xx}	68 ± 26^{xx}

Tab. 6: Histaminfreisetzung im Gesamtblut des Hundes aus 4 Gefäßarealen.

Cremophor El 0,1 ml/kg in Femoralvene injiziert.

MHT = Maximale Hypotension

x = $p < 0,001$, xx = $p < 0,005$, xxx = $p < 0,02$

4. 7. Versuche mit Cremophoranalogen

Im Rahmen der Untersuchung über Histaminfreisetzung durch Netzmittel wurden 7 Cremophore und Tween auf ihre Wirkung am Hund untersucht. Die Mittel, die den Hunden gemäß Versuchsanordnung intravenös appliziert wurden, ergeben sie aus Tabelle 1. Da die Randmolekulation der Hunde nach dem lateralen Quader erfolgte, glichen sich die Kollektive weitgehend, wie aus Tabelle bei einem Großversuch zu erkennen ist. Innerhalb der Verteilungsgrenzen von 33 % konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Lediglich das Körpergewicht der Gruppe 4 war mit 26 kg relativ hoch.

4. 7. 1. Das Auftreten von Nebenwirkungen auf verschiedene Netzmittel und Todesfälle der Hunde

Das Auftreten der Blutdruckreaktionen auf die Netzmittel und die Todesfälle der Hunde aufgrund der intravenösen Applikation der verschiedenen Bestandteile unterschied sich offensichtlich von Mischung zu Mischung (Tabelle 7. 1. Der Tod trat in keinem Fall später als 15 Minuten nach Verabreichung der Mittel auf.

Alle Tiere reagierten auf Tween 80 als Vergleichssubstanz.

Cremophor E1 war kaum weniger wirksam. Nach Hydrolyse von Cremophor E1 entsteht hauptsächlich 12-Hydroxysearinsäure, die die Reaktionen nur gering reduzierte. Die Versuchszahl war aber zu gering, um eine statistische Signifikanz zu zeigen, z. B. im

χ^2 -Test.

Wie man aus Tabelle 7. 1. sehen kann, verursachte Mulgofen Reaktionen bei allen 8 Tieren.

Der untere Teil der Tabelle 7. 1. enthält hauptsächlich die Ergebnisse von Fraktionen oder Zusammensetzungen von Cremophor E1.

Interessanterweise reagierte keines der Tiere auf die hydrophilen Komponenten von Cremophor E1 und auf das oxäthylerte Glycerin. 7 von 8 Hunden zeigten jedoch einen Blutdruckabfall nach Verabreichung der hydrophoben Komponenten, und alle Tiere reagierten auf oxäthylerte Fettsäuren.

Aus letztes verursachte Lutensol AP 10 einen deutlichen Blutdruckabfall bei allen untersuchten Hunden. Lutensol AP 10 ist ein

Nummer	Bestandteile oder Mischung	Häufigkeit (n_1/n_2) ^x	
		Reaktion	Tod
1	Tween 80	8/8	2/8
2	Cremophor El 0963	7/8	1/8
3	Cremophor El 758	7/8	0/8
4	Cremophor El 1948	6/8	0/8
5	Cremophor El 0963 (gereinigt)	7/8	2/8
6	Cremophor RH 40, 43	5/8	0/8
7	Cremophor RH 40, 43 (gereinigt)	6/8	0/8
8	Mulgofen El 620	8/8	1/8
9	Cremophor RH 40 (hydrophile Komponenten)	0/8	0/8
10	Cremophor RH 40 (hydrophobe Komponenten)	7/8	1/8
11	Oxäthyliertes Glycerin	0/8	0/8
12	Oxäthylierte Ricinolsäure	8/8	0/8
13	Oxäthylierte Ölsäure	8/8	2/8
14	Oxäthyliertes Glycerin, Monoölsäureester	8/8	0/8
15	Lutensol AP 10	8/8	8/8

Tab. 7 : Häufigkeit von Nebenwirkungen und Todesfällen nach Applikation der verschiedenen Bestandteile und Zusammensetzungen des Cremophor El beim Hund.

oxäthyliertes Nonylphenol. Ähnlich verhält sich Lensodel NP 40, ein oxäthyliertes Octylphenol (Lorenz et al. 1972).

Diese zwei Netzmittel sind nicht ionische Reinigungsmittel (Tenside) auf einer anderen chemischen Basis als Cremophor El.

Bezüglich der Todesfälle der Tiere, wie man aus Tabelle 7 ersehen kann, scheint es bemerkenswert, daß einige Tiere nach Injektion von Tween 80, Cremophor El und der oxäthylierten Ölsäure starben. Obwohl die Häufigkeit des Auftretens geringer war als nach Injektion von Lutensol AP 10, ist dies aber in sich ein ernstzunehmender Faktor.

4. 7. 2 Blutdruckreaktionen und Histaminfreisetzung nach Verabreichung verschiedener Netzmittel

Wie Giertz und Hahn 1966 beschrieben, senkte auch in unseren Versuchen Tween 80 den Blutdruck sehr stark. Das freigesetzte Histamin zeigte die höchste Blutkonzentration in diesem Versuch. (Tabelle 8).

Alle anderen Zusammensetzungen von Cremophor El zeigten ebenfalls einen deutlichen Blutdruckabfall mit Histaminfreisetzung (Abb. 9). Lutensol AP 10 (Lorenz und Mitarbeiter 1972) verursachte einen schweren Blutdruckabfall, setzte aber nicht signifikante Mengen Histamin frei, wie man es sich aufgrund der Bluthistaminbestimmungen hätte versprechen können (Lorenz et al. 1974).

Oxäthyliertes Glycerin und die hydrophilen Komponenten von Cremophor El (Abb. 9) veränderten weder den Blutdruck noch kam es zu einem Histaminanstieg.

Die hydrophoben Komponenten von Cremophor RH 40, die oxäthylierten Fettsäuren sowie einige Fettsäureester in diesem Versuch senkten alle den Blutdruck sehr stark.

Die Histaminfreisetzung variierte : 1. Oxäthylierte Rizinolsäure verursachte keinen signifikanten Anstieg der Bluthistaminkonzentration.

2. Die oxäthylierte Ölsäure provozierte einen mäßigen Histaminanstieg, aber der oxäthylierte Glycerinester der Ölsäure und die hydrophoben Komponenten von Cremophor RH 40 waren deutlich effektiver.

Nummer	Bestandteile oder Zusammensetzung	Blutdruckabfall (mm Hg) ($\bar{x} \pm$ S. D.)	Histaminfreisetzung (ng/ml) ($\bar{x} \pm$ S. D.)
1	Tween 80	116 $\pm$ 31	401 $\pm$ 294
2	Cremophor El 0963	83 $\pm$ 39	137 $\pm$ 51
3	Cremophor El 758	81 $\pm$ 43	115 $\pm$ 67
4	Cremophor El 1948	78 $\pm$ 54	122 $\pm$ 105
5	Cremophor El 0963 (gereinigt)	95 $\pm$ 47	216 $\pm$ 206
6	Cremophor RH 40, 43	68 $\pm$ 55	128 $\pm$ 117
7	Cremophor RH 40, 43 (gereinigt)	83 $\pm$ 58	118 $\pm$ 70
8	Mulgofen El 620	103 $\pm$ 25	135 $\pm$ 62
9	Cremophor RH 40 (hydrophile Komponenten)	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 2
10	Cremophor RH 40 (hydrophobe Komponenten)	91 $\pm$ 39	185 $\pm$ 119
11	Oxäthyliertes Glycerin	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
12	Oxäthylierte Ricinolsäure	103 $\pm$ 26	1 $\pm$ 2
13	Oxäthylierte Ölsäure	90 $\pm$ 19	23 $\pm$ 51
14	Oxäthyliertes Glycerin, Monoölsäureester	100 $\pm$ 12	328 $\pm$ 177
15	Lutensol AP 10	117 $\pm$ 13	5 $\pm$ 14

Tab. 8 : Blutdruckabfall und Anstieg der Bluthistaminkonzentration nach Applikation der verabreichten Medikamente beim Hund (8 Tiere pro Versuch (Median). Es wird der größte Blutdruckabfall und der größte Anstieg des Bluthistamin gezeigt.

5. DISKUSSION

Cremophor El wird durch Oxäthylierung von Rizinusöl bei erhöhten Temperaturen in alkalischen Milieu hergestellt. Dieses Verfahren wurde von der BASF (Badische Anilin- und Soda-Fabrik AG) entwickelt und von K. Müller (1973) veröffentlicht. Löste man Cremophor El in einer Mischung von Äthylenchlorid und Wasser, konnten die hydrophilen und hydrophoben Anteile getrennt werden. Viele dieser verschiedenartigen Anteile wurden durch chemische Analysen identifiziert, wie durch IR-Spektren, Dünnschichtchromatographie und Säulenchromatographie aus Silicagel (Müller, 1973). 80 % waren oxäthylierte Produkte, 3 % nicht reagierendes Rizinusöl. Die oxäthylierten Produkte waren zahlreiche Ester, ungefähr 80 % mit Rizinolsäure, der Hauptbestandteil des Rizinusöls. Ölsäure aber war mit ungefähr 5 % vorhanden.

So war es interessant, daß nur die oxäthylierte Ölsäure, nicht aber die oxäthylierte Rizinolsäure beim Hund Histamin freisetzte. Es kann somit nur ein kleiner Teil des Cremophor El für die meisten Nebenwirkungen verantwortlich gemacht werden.

Wie schon vorher erwähnt, ist Cremophor El Lösungsvermittler verschiedener wasserunlöslicher Medikamente, z. B. auch Lösungsvermittler des Kurzsnarkotikums Propanidid. Nach Verwendung von Propanidid berichteten mehrere Autoren über Zwischenfälle mit klinischen Symptomen einer anaphylaktischen Reaktion :

Michel, 1965; Ratway, 1965; Beck, 1965; Manns und Frank, 1969; Kai, 1969; Doenicke und Lorenz, 1970; Dannemann und Lübcke, 1970; Krüger, 1970; Johns, 1970.

Als Erklärung für diese anaphylaktoiden bzw. allergischen Reaktionen können verschiedene Mechanismen verantwortlich gemacht werden :

- a) Die chemische Histaminfreisetzung als direkte Wirkung auf die Histaminspeicher, die Mastzellen. (Paton, 1956, 1957).
- b) Eine indirekte Histaminfreisetzung aufgrund einer vorhandenen Hypoxie oder in Verbindung mit Hyperkapnie und Azidose,

sogen. co-liberators (Mongar und Schild, 1975).

- c) Eine Histaminfreisetzung aufgrund immunologischer Prozesse, so z. B. nach Sensibilisierung oder durch eine Kreuzallergie.
- d) Durch Freisetzung von Chininen, Serotonin, Prostaglandinen, slow-reacting-substance (SRS), in Verbindung mit der Freisetzung von Histaminika oder mit neutralen Mechanismen, wie z. B. Parasympathika.

Lorenz und Doenicke konnten 1973 bei 4 Patienten allergische bzw. anaphylaktoide Reaktionen auf Propanidid feststellen. Dabei konnte einmal die Proportionalität zwischen der Schwere der anaphylaktoiden Reaktion und dem Anstieg des Plasmahistaminspiegels, zum anderen eine zeitliche Parallelität zwischen Entstehung und Verschwinden der klinischen Symptomatik und dem Anstieg bzw. Abfall des Plasmahistamins gezeigt werden.

Die Messung einer Histaminfreisetzung beim Menschen während eines anaphylaktoiden Schockes ist problematisch. Mit folgenden Methoden läßt sich die Histaminfreisetzung beim Menschen nachweisen :

Einmal durch direkte Methoden, wie die Histaminbestimmung im Plasma bzw. im Vollblut. Zum anderen durch indirekte Methoden, wie Kreislaufreaktionen (Abb. 3), Magensaftsekretion, Bronchospasmus, Erythem- und Ödembildung und teilweise bzw. vollständige Hemmung dieser angegebenen Körperreaktionen durch Antihistaminika (H_1 - und H_2 -Rezeptor-antagonisten). Die am meisten spezifische Methode von den genannten Verfahren stellt die Histaminbestimmung im Plasma dar. Bis heute gibt es 4 Methoden zur Bestimmung des Plasmahistamins :

Haut und Schleimhäute

Erythem
Urticaria
Pruritus
Conjunctivitis
Quincke-Ödem
Rhinitis
Larynxödem
Pharynxödem

Magen-Darmtrakt

Übelkeit
Erbrechen
Stuhldrang
Defäkation

Lunge und Bronchien

Reizhusten
Bronchospasmus

Kreislauf

Tachykardie
Hypotension
Kreislaufstillstand
Herzstillstand

Einseitiger Kopfschmerz

Abb.12 : Klinische Symptome bei allergischen und anaphylaktoiden
Reaktionen und Plasmasubstituten

Nach Adam et al. (1957) biologisch am überströmten Meerschweinchen-ileum, nach Graham et al. (1968) fluorometrisch nach Reinigung über Decalso und Butanolextraktion, nach Lorenz et al. (1970) fluorometrisch nach Reinigung über Dowex 50 und Butanolextraktion und nach Miller et al. (1970) in Form einer enzymatischen Doppelisotopenverdünnungsmethode. Der Mittelwert normaler Plasmahistaminkonzentrationen beim Menschen liegt bei 0,6 ng/ml Plasma.

1971 konnten Lorenz et al. zeigen, daß Cremophor bei Hund und Katze eine starke Hypotension und eine massive Histaminliberierung verursachten. Bei Mensch, Schwein und Kaninchen konnte jedoch keine Wirkung nachgewiesen werden. Cremophor allein verabreicht, ist beim Menschen also unwirksam, aber in Kombination mit Narkosemitteln benutzt, ist es ein Histaminliberator. Unter diesen Bedingungen war die Entdeckung, daß Cremophor El auch beim Hund Histamin freisetzt, von großer klinischer Bedeutung. Es war wichtig, Cremophor in Hinsicht seiner aktiven Bestandteile zu studieren, die es enthält.

Ferner muß noch hervorgehoben werden, daß der Blutdruckabfall nach Verabreichung von Anteilen des Cremophor auf keinen Fall gleichgesetzt werden kann mit der Histaminfreisetzung durch diese Mittel. Verschiedentlich wurde der Blutdruck durch Histaminfreisetzung gesenkt, aber die Blutdrucksenkung kann auch durch viele andere Mechanismen verursacht werden. So senkte zum Beispiel n-Propanol den Blutdruck, setzte aber kein Histamin frei.

Nach Gabe von Lensodel NP 40 kam es zwar zu einer kurzfristigen Blutdrucksenkung, aber nach wenigen Minuten war der Ausgangsdruck wieder erreicht. Auch hier fand sich im Vollblut kein Histaminanstieg. Somit ist anzunehmen, daß eine Histaminfreisetzung nicht die Ursache der Hypotension nach Injektion von Lensodel gewesen ist. Andererseits dürfte damit die histaminfreisetzende Wirkung von Cremophor nicht die Folge seiner Oberflächenaktivität sein. Die unterschiedliche

Organ- bzw. Gewebsmanifestation der Histaminfreisetzung durch verschiedene basische oder hochmolekulare Substanzen wirft die Frage nach dem Mechanismus der Histaminliberation aus den Mastzellen auf. Mit Cremophor El war ein Stoff gefunden, der beim Hund sowohl aus typischen als auch atypischen Mastzellen Histamin freisetzt, d. h. typische und atypische Mastzellen in bestimmten Geweben beim Hund haben gemeinsame Eigenschaften, die sie für Cremophor empfindlich machen. Lorenz et al. (1972) konnte nachweisen, daß Histaminfreisetzung und Mastzellabnahme nach Cremophor El-Gabe parallel verliefen.

Interessant war der weitere Befund, daß es zu einem unterschiedlichen Anstieg der Histaminkonzentration innerhalb vier verschiedener Areale des Hundes nach Cremophor El-Gabe kam. In der v. porta war der höchste Gesamtbluthistaminspiegel beim stärksten Blutdruckabfall, während in den anderen Gefäßarealen der höchste Histaminspiegel 5 - 15 Minuten später gemessen wurde. Zwei Schlüsse können daraus gezogen werden. Einmal war in der aorta abdominalis die Histaminkonzentration niedriger als in der v. porta, so ist das Histamin sehr wahrscheinlich aus dem Gastrointestinaltrakt freigesetzt worden, und nicht aus der Leber, wie das auch die Histaminspiegel der v. hepatica beweisen. Zum anderen war die Histaminkonzentration in der v. cava inferior höher als in der Aorta. Somit wird das Histamin sehr wahrscheinlich aus der Körperperipherie freigesetzt worden sein. Da Histamin sowohl aus der Haut als auch im Gastrointestinaltrakt durch Cremophor El liberiert worden ist, ist dieser Mechanismus denkbar.

Da heute bekannt ist, daß die Ölsäure des Cremophor El für die Zwischenfälle verantwortlich ist, arbeitet man daran, die Ölsäure von Cremophor El fernzuhalten oder Ölsäure im Originalmaterial zu vermeiden. Damit hätte man die Gewähr, daß nicht-toxische Lösungsvermittler mit Cremophor hergestellt würden. Die Histaminfreisetzung ist nur eine Nebenwirkung des Cremophor El und der Mechanismus anderer Wirkungen dieses Mittels, aber die klinisch weniger wichtig sind, bleibt noch zu erforschen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Es galt Klarheit über die Nebenwirkungen von Cremophor El zu gewinnen. Als Versuchstier wurde der Hund gewählt, da er sich gegenüber Cremophor empfindlich erwiesen hatte. Es konnten folgende Ergebnisse erzielt werden :

1. Pathologisch-histologische Untersuchungen konnten zeigen, daß es nach Cremophor El-Gabe zu deutlichen Blutstauungen der Lunge und der Leber kam. Ebenfalls kam es am Darm zu enterocolitis-ähnlichen Erscheinungsformen.
2. Nach Cremophor El-Gabe kam es zu einer deutlichen Histaminfreisetzung, die in den ersten 5 Minuten sowohl im Plasma als auch im Vollblut einen deutlichen Anstieg zeigten. Das Plasmahistamin stieg von 0,4 auf 27 ng, während das Vollbluthistamin den Gipfel nach 5 Minuten bis 380 ng hatte (von 33 ng).
3. Diese massive Freisetzung hatte einen deutlichen Blutdruckabfall um ungefähr 70 mm Hg zur Folge.
4. In einem Cremophor-Injektionsversuch über 3 Tage wurde das große und kleine Blutbild des Hundes untersucht. Bereits nach einer 1/2 Stunde kam es zu einem deutlichen Abfall der Leukocyten, während Hämoglobin und Hämatokrit anstiegen, und die Erythrocyten gleichblieben. Die Leukocyten stiegen am 1. Tag bis auf den doppelten Wert an und blieben über den Zeitraum von 9 Stunden deutlich erhöht. In den Folgetagen waren der Abfall und der Anstieg der Leukocyten nicht mehr so gravierend. Gegenüber den Leertieren kam es zu signifikanten Veränderungen.
5. Nach Injektion von Cremophor El kam es zu einem deutlichen Anstieg des Histaminspiegels in 4 Gefäßarealen : Der v. porta, der v. cava inferior und der v. hepatica sowie der abdominellen Aorta. Den höchsten Histaminwert fand man in der v. cava inferior und in der v. porta. Da der Histamingehalt in der v. porta höher war als

in der Aorta abdominalis, liegt der Schluß nahe, daß das Histamin aus dem Gastrointestinaltrakt freigesetzt worden ist und nicht aus der Leber.

6. Es wurden insgesamt 16 Zusammensetzungen oder Mischungen von Cremophor El an Hunden getestet. Keines der Tiere reagierte auf die hydrophilen Komponenten von Cremophor El und das oxäthylierte Glycerin. Nur bei den hydrophoben Komponenten zeigten sich bei 90 % der Tiere Blutdruckabfall. Alle Tiere reagierten auf oxäthylierte Fettsäuren. Die hydrophoben Komponenten von Cremophor RH 40, die oxäthylierten Fettsäuren sowie die Fettsäureester senkten alle den Blutdruck des Hundes sehr stark. Die oxäthylierten Glycerinester der Ölsäure und die hydrophoben Komponenten von Cremophor RH 40 zeigten eine deutliche Histaminfreisetzung.

Nach den vorliegenden Untersuchungen ist geklärt, daß die Ölsäure des Cremophor El für die Zwischenfälle in Zusammenhang mit der medikamentösen Verabreichung verantwortlich ist.

L i t e r a t u r

- ADAM, H.M., O.C. HARDWICK and K.E.V. SPENCER :
Method for determination of histamine in plasma.
Brit. J. Pharmacol. 12, 397 (1957)
- ANREP, G.V., G.S. BARSOUM and M. TALANT :
Release of histamine by the liver.
J. Physiol. (London) 120, 419 - 426 (1953)
- BECK, L. :
Erfahrungen mit dem Kurzernarkotikum Propanidid in der
Geburtshilfe.
Springer, Heidelberg-Berlin-New York
Anaesth. Wiederbel. 4, 223 (1965)
- BRODIE, B.B., M.A. BEAVEN, F. ERJAVEC and H.L. JOHNSON :
Uptake and release of H³-Histamine.
Pergamon Press, Oxford, pp 401 - 405 (1966)
- CLARKE, R.S., J.W. DUNDEE, R.T. GARRETT, G.K. Mc ARDLE,
and J.A. SUTTON :
Adverse reactions to intravenous anaesthetics.
A survey of 100 reports.
Brit. J. Anaesth. 47, 575 - 585 (1975)
- DANNEMANN, H. und P. LÜBKE :
Komplikationen während Narkosen mit Epontol.
Z. prakt. Anaesth. Wiederbel. 4, 273 (1970)
- DOENICKE, A. und W. LORENZ :
Histaminfreisetzung und anaphylaktische Reaktionen bei Narkosen.
Biochemische und klinische Aspekte.
Anaesthesist 19, 413 - 417 (1970)
- DOENICKE, A., W. LORENZ, R. BEIGL, H. BEZECNY, G. UHLIG,
L. KALMAR, B. PRAETORIUS and G. MANN :
Histamine release after intravenous application of short-acting
hypnotics : a comparison of Etomidate, Althesin (CT 1341)
and Propanidid.
- FELDBERG, W. und J. TALESNIK :
Reduction of tissue histamine by compound 48/80.
J. Physiol. 120, 550 (1953)
- GIERTZ, H. and F. HAHN :
Makromolekulare Histaminliberatoren.
Handbook of Experimental Pharmacology.
Springer, Heidelberg-Berlin-New York 18/1, 481 (1966)

GRAHAM, H. T., J. A. D. SCARPELLINI, B. P. HUBKA and D. H. LOWRY :
Measurement and normal range of free histamine in human
blood plasma.
Biochem. Pharmacol. 17, 2271 (1968)

JOHNS, G. :
Cardiac arrest following induction with propanidid.
Brit. J. Anaesth. 42, 74 (1970)

KATZ, D. und H. -J. SIEGEL :
Progr. Gastroenterol. 1, 67 (1968)

KAY, B. :
Hypotensive reaction after propanidid and atropine.
Brit. med. J. 2, 413 (1969)

KRÜGER, H. W. :
Anaphylaktischer Schock nach Epontolnarkosen.
Geburtshilfe und Frauenheilkunde 30, 37 (1970)

LAGUNOFF, D., M. T. PHILIPS, O. A. ISERI and E. P. BENDITT :
Isolation and preliminary characterization of rat mastcell
granules.
Lab. Invest. 13, 1331 (1964)

LORENZ, W. und K. PFLEGER :
Stoffwechsel und physiol. Funktion von Histamin im Magen.
Wschr. 46, 57 (1968)

LORENZ, W., St. HALBACH and E. WERLE :
Specific histidine decarboxylase in the gastric mucosa of
man and other mammals : determination, location and
properties.
Biochem. Pharmacol. 18, 2625 (1969)

LORENZ, W., A. SCHAUER, St. HALBACH, R. CALVOER and
E. WERLE :
Biochemical and histochemical studies in the distribution of
histamine in the digestive tract of man, dog and other mammals.
Naunyn-Schmied, Arch. Pharmak. exp. Path. 265, 81 (1969)

LORENZ, W., A. SCHAUER, St. HALBACH, E. MATEKJA and
E. WERLE :
Biochemical and histochemical studies on histamine in the
digestive tract : distribution in different chordates and
cellular stores in the dog.
Naunyn-Schmied, Arch. Pharmak. exp. Path. 264, 274 (1969 b)

LORENZ, W., H. BARTH und E. WERLE :

Histamine and histamine methyl transferase in the
gastric mucosa of man, pig, dog and cow.
Naunyn-Schmied, Arch. Pharm. exp. Path. 267, 421 (1970)

LORENZ, W., L. BENESCH, H. BARTH, E. MATEJKA, R. MEYER,
J. KUSCHE, M. HUTZEL and E. WERLE :

Fluorometric assay of histamine in tissues and body fluids :
Choice of the purification procedure and identification in the
nanogram range.
Z. Analyt. Chem. 252, 94 (1970 b)

LORENZ, W., H. BARTH, J. KUSCHE, H. -J. REIMANN, A. SCHMAL,
E. MATEJKA, Ch. MATHIAS, M. HUTZEL and E. WERLE :

Histamine in the pig. Determination, Distribution, Release
and Pharmacological Actions.
Europ. J. of Pharmacol. 14, 155 (1971 a)

LORENZ, W., R. MEYER, A. DOENICKE, A. SCHMAL,
H. -J. REIMANN, M. HUTZEL and E. WERLE :

On the species specificity of the histamine release from mastcell
stores by Cremophor El.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. 269, 417 (1971 b)

LORENZ, W., A. DOENICKE, R. MEYER, H. -J. REIMANN,
J. KUSCHE, H. BARTH, H. GEESING, M. HUTZEL and
B. WEISSENBACHER :

An improved method for the determination of histamine release
in man : Its application in studies with propanidid and thiopentone.
Europ. J. Pharmacol. 19, 180 (1972)

LORENZ, W., H. -J. REIMANN, H. BARTH, J. KUSCHE, R. MEYER,
A. DOENICKE and M. HUTZEL :

Asensitive and specific method for the determination of histamine
in human whole blood and plasma.
Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem. 353, 911 (1972 a)

LORENZ, W., A. DOENICKE, R. MEYER, H. -J. REIMANN,
J. KUSCHE, H. BARTH, H. GEESING, M. HUTZEL and
B. WEISSENBACHER :

Histamine release in man by propanidid and thiopentone :
Pharmacological effects and clinical consequences.
Brit. J. Anaesth. 44, 355 (1972 b)

LORENZ, W., A. HUHND, J. KUSCHE, H. BARTH, G. HAUBENSACK,
M. HUTZEL, A. SCHMAL, M. GERANT, A. WÄCHTER,
E. MATEJKA, H. HAHN and E. WERLE :

Histamine and Salivary Secretion.
Maslinski, Histamine
Dowden, Hutchinson & Ross Philadelphia p 187 - 200 (1973)

LORENZ, W. und A. DOENICKE :

Biochemie und Pharmakologie der Histaminfreisetzung durch intravenöse Narkosemittel und Muskelrelaxantien.
Anaesthesie und Wiederbelebung 74, 179 (1973)

LORENZ, W., A. DOENICKE, H. -J. REIMANN, M. THERMANN, R. TAUBER, A. SCHMAL, P. DORMANN, H. HENSEL, H. HAMELMANN and E. WERLE :

Plasma histamine determination in man and dog following the infusion of plasma substitutes : models for histamine release under pathophysiological conditions.
Agents and Actions 3, 183 (1973 a)

LORENZ, W., E. MATEJKA, A. SCHMAL, W. SEIDEL, H. -J. REIMANN, R. UHLIG and G. MANN :

A phylogenetic study on the occurrence and distribution of histamine in the gastro-intestinal tract and other tissues of man and various animals.
Comp. Gen. Pharmacol. 4, 229 (1973 b)

LORENZ, W., M. THERMANN, K. MESSMER, A. SCHMAL, P. DORMANN, J. KUSCHE, H. BARTH, R. TAUBER, M. HUTZEL, G. MANN and R. UHLIG :

Evaluation of histamine elimination curves in plasma and whole blood of several circulatory regions : A method for studying kinetics of histamine release in the whole animal.
Agents and Actions 4, 336 (1974)

LORENZ, W., H. BARTH and I. NIEMEYER :

Studies on the mechanism of Inhibition of Gastric Histamine Methyltransferase by H₁- and H₂-Receptor Antagonists.
Clive, J. Wood, D. Phil., M. Alison Simkins, Ph.D.
M.J. Inf. Sc., Deltakos (UK) Ltd. London, W1, p. 115 (1973)

LORENZ, W., W. SEIDEL, A. DOENICKE, R. TAUBER, H. -J. REIMANN, R. UHLIG, G. MANN, P. DORMANN, A. SCHMAL, G. HÄFNER and H. HAMELMANN :

Elevated plasma histamine concentrations in surgery : Causes and clinical significance.
Klin. Wschr. 52, 419 (1974)

LORENZ, W., H. BARTH, M. THERMANN, A. SCHMAL, P. DORMANN, and J. NIEMEYER :

Fluorometric histamine determination in canine plasma of normal conditions, following application of exogenous histamine and during histamine release by Haemaccel^R.
Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 355, 1097 (1974 a)

LORENZ, W. :

Histamine release in man.
Agents and Actions 5, 402 (1975)

Mac INTOSH, F.C. and W.D.M. PATON :

The liveration of histamine by certain organic bases.
Physiol. (London) 109, 190 (1949)

MANTZ, R. and G. FRANK :

Zur Frage allergischer Reaktionen nach Epontol.
Anaesthesist 18, 223 (1969)

MICHEL, C.F. :

Die Anwendung von Propanidid in der Gynäkologie.
Anaesth. Wiederbel. 4, 225 (1965), Springer, Heidelberg

MILLER, R.L., C.M. CORD, M. SANDA, H.R. BOURNE and
K.L. MELMON :

Application of the enzymatic double isotope dilution assay
for the study of histamine in plasma.
J. Pharmacol. exp. Therap. 175, 228 - 234 (1970)

MONGAR, J.L. and H.O. SCHILD :

Inhibition of histamine release in anaphylaxis.
Nature (London) 176, 163 (1955)

MÜLLER, K. :

Untersuchungen über Cremophor El.
Tenside 3, 37 (1973)

PATON, W.D.M. :

The mechanism of histamine release.
In Ciba Foundation, Symposium on Histamine, p. 59 (1956)
London, Churchill.

PATON, W.D.M. :

Histamine release by compounds of simple chemical structure.
Pharmacol. Rev. 9, 269 (1957)

RADWAY, P.A. :

Allergic and anaphylactic reactions, decrease in blood pressure
after propanidid.
Acta anaesth. scand., Suppl. 17, 80 (1965)

REIMANN, H. -J. :

Histaminfreisetzung beim Schwein, Hund und Mensch.
Bestimmungsmethoden und Beurteilung unter experimentellen
und klinischen Bedingungen.
Inaugural-Dissertation, Marburg (1973)

ROMEIS, B. :

Mikroskopische Technik.
R. Oldenbourg-Verlag München (1968)

SEIDEL, W., W. LORENZ, A. DOENICKE, G. MANN, R. UHLIG
und H. ROHDE :

Histaminfreisetzung beim Menschen und Streßulkuspathogenese.
Z. Gastroenterol. 11, 297 - 300 (1973)

SHORE, P.A., A. BURKHALTER and V.H. COHN :

A method for the fluorometric assay of histamine in tissues.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 127, 182 (1959)

SNEDECOR, G.W. and W.G. COCHRAN :

Statistical methods.
Iowa State University Press Am., p. 62 (1967)

UVNÄS, B., P. RÖHLICH und P. ANDERSON :

Electromicroscope observations on compound 48/80 induced
Degranulation in rat mastcells.
The Journal of Cell-Biol. Vol. 51, 465 - 483 (1971)

ZINDLER, M., H. YAMAMURA and W. WIRTH :

Intravenöse Narkose mit Propanidid.
Anaesthesiologie und Wiederbelebung,
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 74, 1 (1973)

Herrn Prof. Dr. W. Lorenz danke ich für die Überlassung
des Themas meiner Doktorarbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. H. -J. Reimann, für
seine freundschaftliche und wertvolle Anleitung und Hilfe bei
dieser Arbeit.

Weiterhin danke ich Frl. Schülle, Herrn Peil, Herrn Brusius
sowie Herrn Schmal.

Lebenslauf

Am 7.10.1947 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Dr. Walter Orthen und seiner Ehefrau Magda in Ehringshausen, Krs. Wetzlar, geboren.

Ab 1954 besuchte ich die Grundschule in Wetzlar. Anschließend besuchte ich ab 1958 das Gymnasium (Goethe-Schule Wetzlar), wo ich im Jahre 1967 die Reifeprüfung ablegte.

Ab 1968 studierte ich Zahnmedizin an der Philipps-Universität in Marburg, wo ich auch am 29. 7. 74 mein Examen ablegte.

Während meiner klinischen Semester erhielt ich eine Doktorarbeit an der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg (Direktor: Prof. Dr. H. Hamelmann) in der Abteilung für experimentelle Chirurgie und pathologische Biochemie (Leitung: Prof. Dr. W. Lorenz).

Nach meinem Examen leistete ich meinen Wehrdienst als Stabsarzt bei der Bundeswehr ab. Ab April 1976 arbeite ich als Assistenzarzt in der Praxis meines Vaters in Wetzlar.

Meine akademischen Lehrer an der Philipps-Universität
in Marburg waren die Herren Professoren und Dozenten :

Amon, Bernhardt, Boch, Bode, Delmiche, Dimroth,
Engelhardt, Goebell, Haan, Hermis, Hensel, Hering,
Heuser, Hort, Janke, Karlsson, Keil, Koecke, Korb,
Kühnel, Mann, Niemeyer, Petry, Pfütz, Riecken, Rohen,
Rosemann, Rupeć, Seidel, Schiff, Schmidt, Schmitz-Moormann,
Schnell, Walcher.

